



Giftstoffer fra hvepse og edderkopper i forskning og lægemiddeludvikling

Strømgaard, Kristian

Published in:
Carlsbergfondet. Aarsskrift

Publication date:
2008

Document version
Også kaldet Forlagets PDF

Citation for published version (APA):
Strømgaard, K. (2008). Giftstoffer fra hvepse og edderkopper i forskning og lægemiddeludvikling. *Carlsbergfondet. Aarsskrift*, 42-47.

VI

GIFTSTOFFER FRA HVEPSE OG EDDERKOPPER I FORSKNING OG LÆGEMIDDELUDVIKLING

AF PROFESSOR, PH.D. KRISTIAN STRØMGAARD
INSTITUT FOR MEDICINALKEMI
FARMACEUTISK FAKULTET
KØBENHAVNS UNIVERSITET

FIGUR 1.

Giftstofferne med virkning på centralnervesystemet, der alle indeholder en polyamin-kæde, kaldet polyamin toksiner, er isoleret fra hvepse og edderkopper; her eksemplificeret ved edderkoppen *Argiope lobata* og hvepsen *Philanthus triangulum*.

Historisk set har naturens stoffer og giftstoffer (toksiner) været det vigtigste udgangspunkt for udviklingen af nye lægemidler. En af de tidligste skriftlige kilder er det berømte "Ebers papyrus" (ca. 1552 før Kristi fødsel), der indeholder knapt 900 beskrivelser og opskrifter på sygdomsbehandling. Indtil for få hundrede år siden brugte man ekstrakter af forskellige planter i behandlingen af sygdomme, men teknologiske fremskridt i det 19. århundrede gjorde det muligt at isolere enkelte komponenter i plantematerialer. Derfor kunne man oprense naturstoffer som morfin, kinin og kodein, der blev brugt som lægemidler. Næste store trin i udviklingen var, at man i laboratoriet kunne modificere naturstoffer, således at effekten blev optimeret og bivirkningerne mindsket. Et af de første eksempler på dette er modificering af salicylsyre, der blev isoleret fra pilefamilien (*Salicaceae*) og brugt til behandling af feber og smerte. Salicylsyre havde dog alvorlige bivirkninger, og i laboratoriet foretog man ganske simple ændringer i den kemiske struktur, og resultatet var acetylsalicylsyre (Aspirin®, Magnyl®), der havde væsentligt færre bivirkninger end salicylsyre.

I vore dage er naturstoffer stadig vigtige for udvikling af nye lægemidler; en opgørelse over nye lægemidler i perioden 1981-2002 viser, at knapt halvdelen af alle nye lægemidler enten er naturstoffer, modifikationer af naturstoffer eller er inspireret af naturstoffer. Man bruger således naturstoffer, ikke blot fra planter, men også fra dyr til at udvikle lægemidler. Et eksempel er giftstoffer fra *Konus* snegle kaldet conotoxiner, der blokerer ionkanaler og har vist sig anvendelige i behandling af visse typer af smerte. Et conotoxin, der er 1000 gange stærkere i smertedæmpning end morfin, er i dag godkendt som lægemiddel (Prialt®) til behandling af særlige former for smerte.

Eksemplet med toksinet fra *Konus* sneglen illustrerer princippet, som den schweiziske læge og alkymist Paracelsus (1493-1541) angives at være ophavsmand til, nemlig at toksiner brugt i små doser kunne virke helbredende, eller sagt mere populært: Forskellen på et giftstof og et lægemiddel er blot dosis. Der er talrige eksempler på, hvordan toksiner har været udgangspunkt for udvikling af nye lægemidler, og der er fortsat meget stor interesse for anvendelse af giftstoffer fra planter og dyr i studier relateret til lægemiddeludvikling.

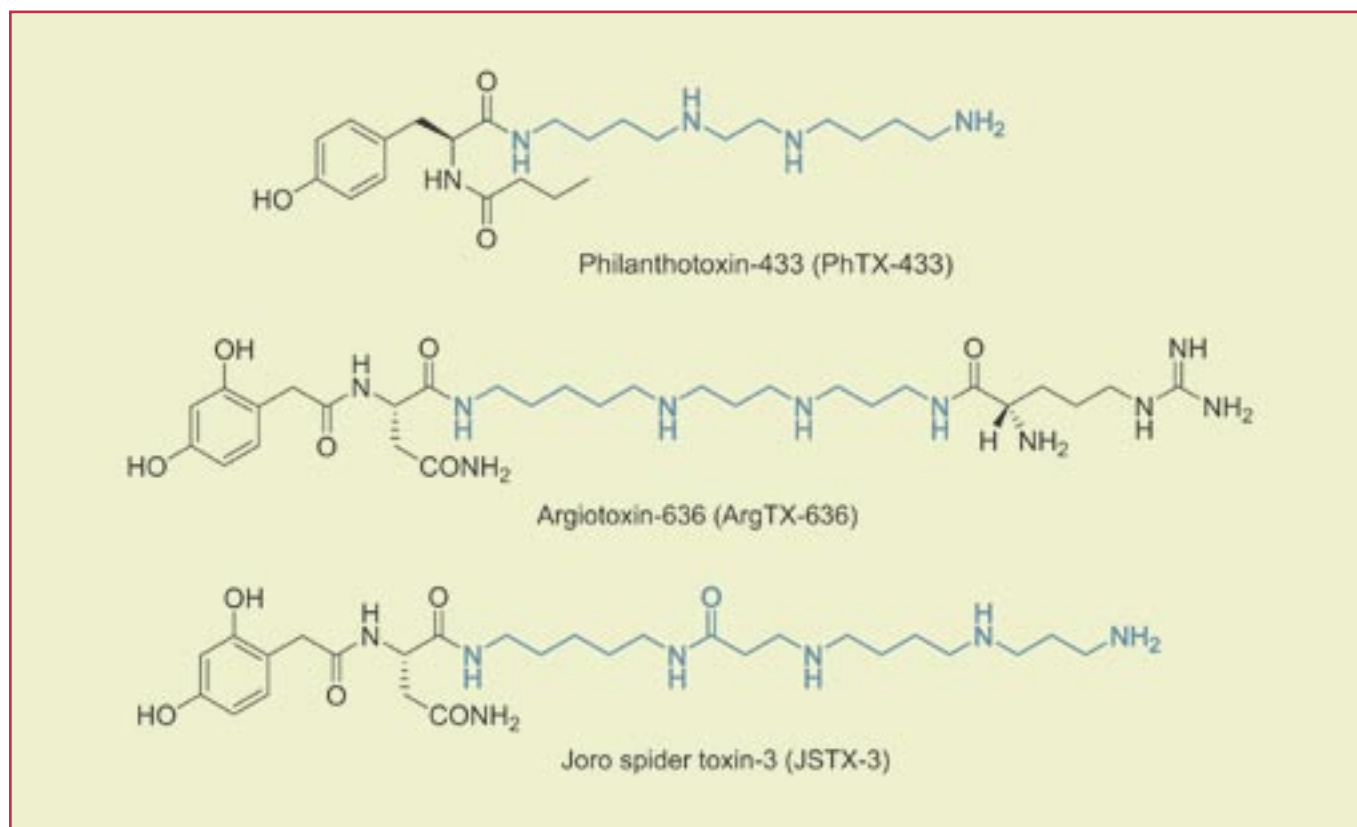
Vi har fokuseret på en klasse af giftstoffer fra edderkopperne *Argiope lobata* og *Nephila clavata* (Joro spider) samt fra hvepsen *Philanthus triangulum* (FIGUR 1). Gift-



stofferne bruges til at dræbe eller paralisere et bytte ved at virke på insekternes nervesystem. Og da insekters og menneskers nervesystem har mange ligheder, er disse gifte interessante som udgangspunkt for udvikling af nye lægemidler mod sygdomme i hjernen, der skyldes nervecellers henfald og død; f.eks. Alzheimers og Parkinsons syge. I slutningen af 1980'erne lykkedes det at isolere og strukturoplære en ny gruppe af giftstoffer fra hvepse og edderkopper. Karakteristisk for alle stofferne var, at de indeholdt en polyamin-kæde, og de blev således kaldt polyamin toksiner. Det første stof, der blev isoleret, var Argiotoxin-636 (ArgTX-636) fra edderkoppen *Argiope lobata* og siden fulgte Joro Spider Toxin-3 (JSTX-3) fra edderkoppen *Nephila clavata* og Philanthotoxin-433 (PhTX-433) fra hvepsen *Philanthus triangulum* (FIGUR 2). Siden er en lang række andre giftstoffer, der også indeholder den karakteristiske polyamin-kæde, blevet isoleret. Det har vist sig, at især edderkopper danner disse giftstoffer ved at kombinere et begrænset antal strukturelle komponenter (polyamin-kæde, aromatisk del og aminosyrer) på forskellig måde, hvilket kan ses som naturens svar på kombinatorisk kemi.

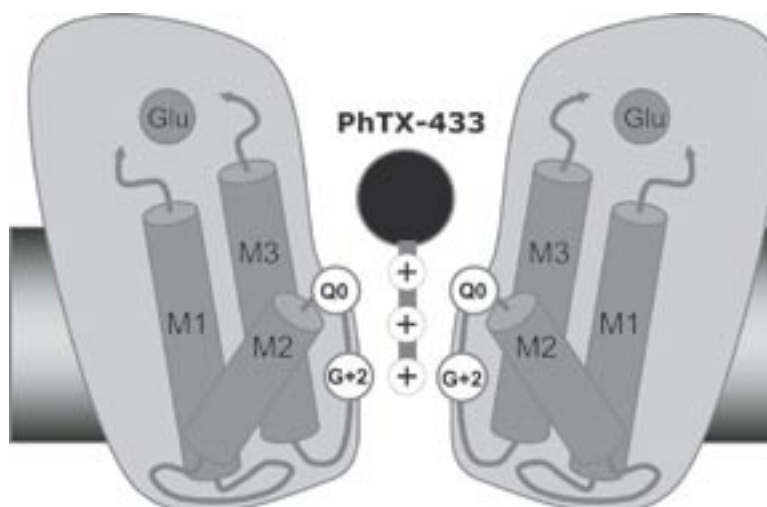
Vores studier har i første omgang fokuseret på PhTX-433 fra hvepsen *Philanthus triangulum*, primært fordi stoffet strukturelt er mere simpelt end ArgTX-636 og JSTX-3 og derved nemmere at fremstille i laboratoriet. Hvepsen kaldes også biulven, da den udelukkende fodrer sine larver med bier. Når bierne indfanges, sker det ved, at hvepsen stikker bien og injicerer en giftcocktail, der pa-

FIGUR 2.
De tre bedst kendte polyamin toksiner, Philanthotoxin-433, Argiotoxin-636 og Joro spider toxin-3 fra en hveps og edderkopper. Polyamin-kæden, der karakteriserer gruppen af giftstoffer, er markeret med blåt.



FIGUR 3.

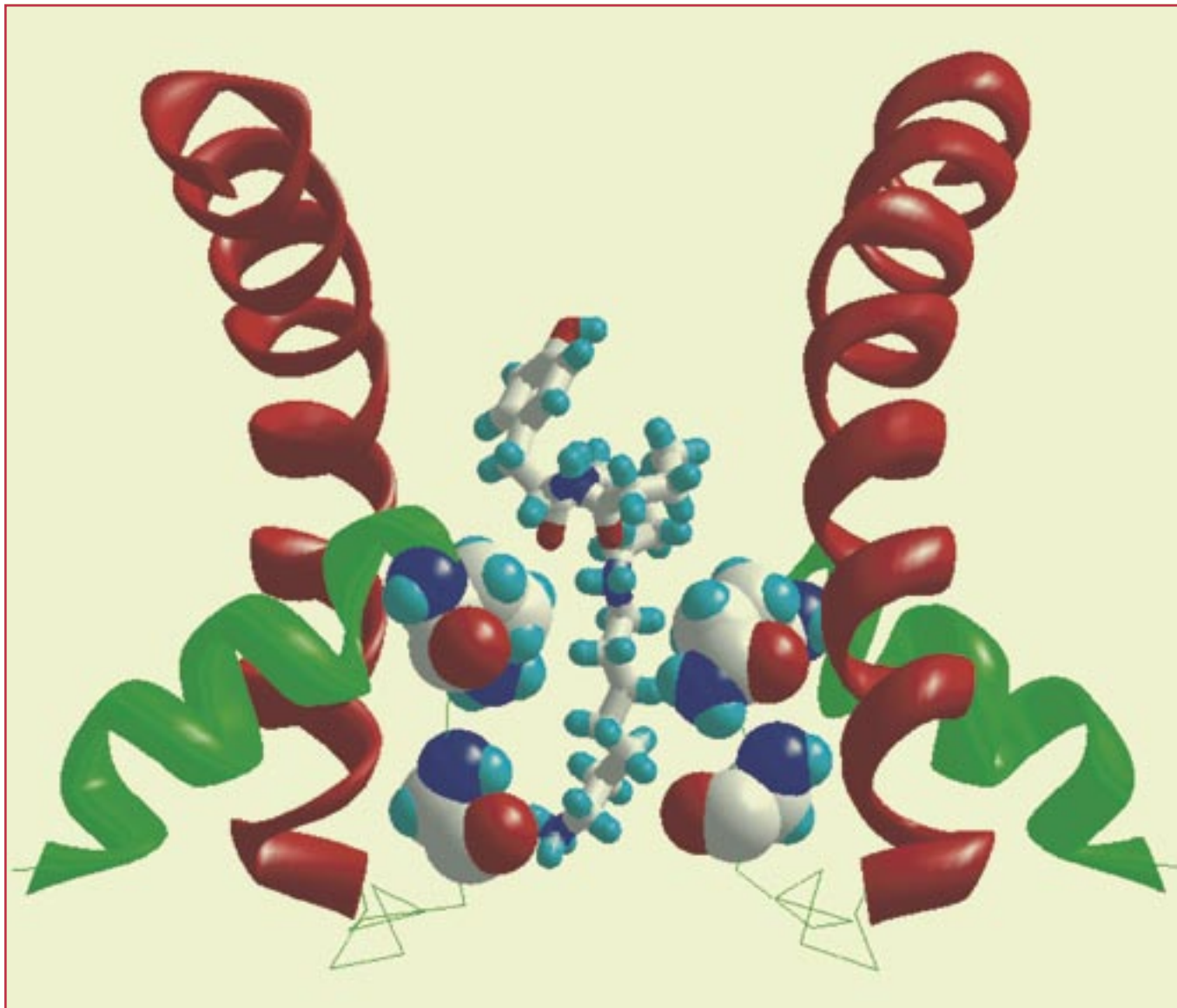
En simpel model for hvordan man forestiller sig, at polyamin toksiner binder til og blokerer ionkanaler. En ionkanal er dannet ved, at en række protein 'subunits' går sammen og danner en kanal, hvor f.eks. Na^+ , K^+ og Ca^{++} kan passere; her er vist to 'subunits', og hvordan PhTX-433 blokerer ionkanalen ved at sætte sig som en prop i kanalen.



ralyserer den, hvor PhTX-433 er det aktive stof i giften. En karakterisering af PhTX-433 afslørede, at stoffet blokerer en klasse af ionkanaler, der fungerer som receptorer for nogle af de signalstoffer i hjernen, som sørger for nervecellernes indbyrdes kommunikation. Ionkanalerne aktiveres bl.a. af glutaminsyre, som er et af hjernens vigtigste stimulerende signalstoffer. En overstimulering af disse ionkanaler menes at føre til nervedød i hjernen og dermed til udvikling af neurodegenerative lidelser som Alzheimers og Parkinsons syge. PhTX-433 har i testsystemer vist en beskyttende effekt på nerveceller, hvilket sammen med blokeringen af ionkanalerne tyder på, at denne stofklasse har et potentiale i behandlingen af neurodegenerative sygdomme. Derudover er PhTX-433 yderligere interessant, derved at stoffet blokerer ionkanalerne ved at binde til et andet område i kanalerne end andre kendte blokerende stoffer (FIGUR 3).

PhTX-433 blokerer en bred vifte af forskellige ionkanaler, hvilket gør det effektivt som giftstof, men mindre attraktivt som farmakologisk forskningsværktøj og som udgangspunkt for udvikling af lægemidler. Derfor kræver det en forfining af strukturen af PhTX-433 således, at det ideelt set kun blokerer een type ionkanaler. PhTX-433 er kemisk bygget op af aminosyren tyrosin, hvortil der er bundet henholdsvis smørsyre og en polyamin-kæde. Numrene i stoffet angiver strukturen af polyamin-kæden, hvor der findes henholdsvis 4, 3 og 3 kulstofatomer mellem amino grupperne.

Første trin i "forfiningsprocessen" består i at fremstille giftstofferne i laboratoriet. I første omgang udviklede vi derfor en effektiv syntesemetode baseret på fastfase-syntese. Vi fremstillede små "biblioteker" af PhTX-433 analoger, hvor der blev lavet mange modifikationer i polyamin-kæden. Det viste sig, at antallet og placeringen af aminogrupperne i polyamin-kæden spiller en helt afgørende rolle for stoffernes evne til at blokere ionkanalerne. Når en aminogruppe blev fjernet, og der blev justeret på placeringen af de resterende aminogrupper, opnåede vi et stof – kaldet Philanthotoxin-56 (PhTX-56) – der var det mest aktive og selektive giftstof, der endnu er beskrevet.



FIGUR 4.

Ved at kombinere syntese af nye polyamin toksiner, avanceret biologisk testning og computerbaseret modelbygning har man fået et detaljeret billede af den præcise mekanisme, hvormed PhTX-56 blokerer en ionkanal. Giftstoffet sætter sig i den snævrreste del af ionkanalen og blokerer for passage af ioner og blokerer derved for aktiviteten af ionkanalen.

For at få en detaljeret forståelse af hvordan det nye stof, PhTX-56, blokerede ionkanaler, kombinerede vi kemiske, biologiske og computer studier. En række nye analoger blev fremstillet i laboratoriet og blev analyseret for deres biologiske effekt. Med computeren opbyggede vi en model af ionkanalen og ”docked” PhTX-56 ned i denne model (FIGUR 4). Kombinationen af disse discipliner gjorde, at vi på et molekylært niveau kunne forklare, hvordan PhTX-56 blokerer ionkanaler.

En helt fundamental betingelse for at PhTX-56 kan bruges som udgangspunkt for behandling af sygdomme i hjerne er, at stoffet trænger ind i hjernen. Det er ofte en stor udfordring, fordi mennesker fra naturens side har en blod-hjerne barriere, der forhindrer fremmede stoffer i at trænge ind i hjernen. Når man vil undersøge, om bestemte stoffer trænger ind i hjernen,

fremstiller man en radioaktivt mærket version af stoffet. Det radioaktivt mærkede stof gives til forsøgsdyr, og derefter kan man undersøge om radioaktiviteten findes i hjernen.

Derfor fremstillede vi en radioaktivt mærket version af PhTX-56, og mærkningen blev foretaget med tritium (^3H), som er den radioaktive version af brint, og er velegnet til bindingsstudier til ionkanaler og til at påvise radioaktiviteten ved obduktion efter aflivning af forsøgsdyret (FIGUR 5). Disse studier er netop i gang og vil vise, om PhTX-56 trænger ind i hjernen. Mærkede versioner af PhTX-56 kan også bruges i andre sammenhænge; vi har f.eks. indsat en mærket version af nitrogen – ^{15}N – der muliggør avancerede strukturelle studier med biologisk NMR (FIGUR 5). Ydermere har vi fremstillet fluorescerende versioner af PhTX-56, og i samarbejde med internationale samarbejdspartnere skal disse bruges til at studere den dynamiske struktur af ionkanaler.

Ved at kombinere især kemiske og biologiske discipliner har vi opnået en detaljeret forståelse af sammenhænge mellem kemisk struktur og biologisk aktivitet af denne gruppe af giftstoffer på en hurtig og effektiv måde. Det har givet en større indsigt i, hvordan disse modifikationer af giftstoffet binder i ionkanalen, og har ledt til en række nye forskningsværktøjer i studiet af ionkanaler. Med tiden vil det måske kunne lede til nye og effektive lægemidler.

FIGUR 5.

Philanthotoxin-56 (PhTX-56) er det mest potente og selektive giftstof, der endnu er beskrevet. Stoffet har været brugt som udgangspunkt for at lave en række farmakologiske forskningsværktøjer, hvor der bl.a. er introduceret radioaktive atomer.

